

Faktorer av betydning for variasjon i serumkonsentrasjonen av lamotrigin og lamotrigin 2-*N*-glukuronid

Hilde Fauskrud Chan



Masteroppgave ved Farmasøytisk institutt,
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

Mai 2013

Faktorer av betydning for variasjon i serumkonsentrasjonen av lamotrigin og lamotrigin 2-*N*-glukuronid

Masteroppgave i farmakologi for graden *Master i farmasi* ved
Avdeling for farmasøytisk biovitenskap, Farmasøytisk institutt,
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet,
Universitetet i Oslo

Oppgaven ble utført ved Senter for Psykofarmakologi,
Diakonhjemmet Sykehus, Oslo

Veiledere:

PhD Tore Haslemo,
Senter for Psykofarmakologi,
Diakonhjemmet Sykehus

Professor Espen Molden,
Senter for Psykofarmakologi,
Diakonhjemmet Sykehus
Avdeling for farmasøytisk biovitenskap,
Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo

Hilde Fauskrud Chan
Mai 2013

© Hilde Fauskrud Chan

2013

Faktorer av betydning for variasjon i serumkonsentrasjonen av lamotrigin og lamotrigin 2-*N*-glukuronid

Hilde Fauskrud Chan

<http://www.duo.uio.no/>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

Forord

Jeg vil først og fremst takke veilederne mine, Tore Haslemo og Espen Molden. Takk for god veiledning og nyttige innspill under arbeidet med oppgaven. En spesiell takk til Tore for at du har vært så tilgjengelig og interessert gjennom hele året, takk for all hjelp og raske tilbakemeldinger. Du har vært en viktig motivator og en god diskusjonspartner gjennom året!

En stor takk vil jeg også rette til Camilla Hoff, Charlotte Bjørge, Hilde Røise Myhre og Hilde Lunde for god hjelp og veiledning med *UGT1A4**3-genotyping og serumkonsentrasjonsanalysene. Takk til alle ved Senter for Psykofarmakologi for at dere har tatt meg med i arbeidsmiljøet; tusen takk for et veldig hyggelig år.

En ekstra takk til Maren Hoff for godt selskap på kontoret. Takk for at du har gitt meg mye latter og motivasjon.

Tilslutt vil jeg takke familie og venner for oppmuntrende ord og all interesse dere har vist gjennom hele studiet. En ekstra takk til foreldrene mine og Marie Fauskrud for korrekturlesing, og til Stian for støtte og tålmodighet.

14. mai 2013

Hilde Fauskrud Chan

Forkortelser

C/D-ratio – Dosejustert serumkonsentrasjon

CL_{int} – Intrinsic clearance

CYP – Cytokrom P450

dNTP – Deoksyribonukleotid trifosfat

K_m – Michaelis-Menten-konstanten

PCR – Polymerase kjedereaksjon

RPM – Omdreininger per minutt

SFP – Senter for Psykofarmakologi

SNP – Singel nukleotid polymorfisme

TAE-buffer – Tris-acetat-EDTA-buffer

TDM – Terapeutisk legemiddelmonitorering

UGT – Uridindifosfatglukuronyltransferase

UPLC – Ultra Performance Liquid Chromatography

V_{max} – Maksimalhastighet for en gitt enzymatisk reaksjon

Sammendrag

Bakgrunn: Lamotrigin brukes i behandling av epilepsi og bipolar lidelse, og utviser betydelig farmakokinetisk variasjon. Metabolismen av lamotrigin skjer i stor grad via enzymet UGT1A4. Hensikten med denne studien var å undersøke effekten av et *UGT1A4*-variantallel (*UGT1A4*3*), samt komedikasjon med valproat og sigarettøyking, på individuell variasjon i serumkonsentrasjonen av lamotrigin og metabolitten lamotrigin 2-*N*-glukuronid.

Metode: Totalt 1005 prøver/analysesvar fra 390 pasienter ble inkludert fra databasen ved Senter for Psykofarmakologi (SFP), Diakonhjemmet Sykehus. I lagrede DNA-prøver ble punktmutasjonen UGT1A4 142T>G (**3*) analysert ved restriksjonskutting og gelelektroforese. Serumkonsentrasjonene av lamotrigin og metabolitten ble bestemt med Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) koblet til tandem massespektrometer (MS/MS). Serumkonsentrasjonsmåling av lamotrigin var tilgjengelig fra historiske rutineanalyser av alle pasientene, mens 325 serumprøver fra 171 pasienter var tilgjengelig for reanalyse av metabolitten. Lineær mixed model-analyse ble benyttet for å evaluere effekten av *UGT1A4*3*, komedikasjon med valproat og sigarettøyking på dosejusterte serumkonsentrasjoner (C/D-ratio) av lamotrigin og lamotrigin 2-*N*-glukuronid. Resultatene ble korrigert for alder og tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetaking.

Resultater: Pasienter heterozygote for *UGT1A4*3* (n=53) viste signifikant lavere C/D-ratio av lamotrigin sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet (-24,2 %; p<0,01). Det ble ikke vist forskjell i C/D-ratio av metabolitten mellom disse gruppene (p=0,5). Det var ingen signifikant forskjell mellom pasienter homozygote for *UGT1A4*3* (n=7) og pasienter uten dette variantallelet, hverken for lamotrigin (p>0,4) eller metabolitten (p>0,1). Pasienter tilleggbehandlet med valproat viste 173,4 % (p<0,001) og 59,2 % (p=0,04) høyere C/D-ratio av henholdsvis lamotrigin og metabolitten sammenlignet med ikke-brukere. Sigarettøyking viste ingen signifikant effekt på C/D-ratio av hverken lamotrigin eller metabolitten (p>0,1).

Konklusjon: Studien viser at pasienter heterozygote for *UGT1A4*3* oppnår signifikant lavere C/D-ratio av lamotrigin sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet, men det er usikkert om den observerte forskjellen er av betydning for det kliniske utfallet av behandlingen. Videre bekrefter studien at kombinasjonsbehandling med valproat medfører en kraftig økning i C/D-ratio av lamotrigin, mens sigarettøyking sannsynligvis er uten klinisk betydning for behandling med lamotrigin.

Innholdsfortegnelse

1	Introduksjon	1
1.1	Farmakologisk variasjon	1
1.1.1	Genetisk polymorfisme	1
1.1.2	Ikke-genetiske faktorer	2
1.2	Eliminasjon av legemidler	3
1.3	UGT-systemet	3
1.3.1	UGT1A4	4
1.3.2	<i>UGT1A4</i> *3	4
1.4	Lamotrigin	6
1.4.1	Klinisk bruk	6
1.4.2	Farmakodynamikk	9
1.4.3	Farmakokinetikk	9
1.4.4	Metabolisme av lamotrigin	9
1.4.5	Interaksjoner med lamotrigin	10
1.5	Hensikt	11
2	Materiale og metoder	12
2.1	Datamateriale	12
2.2	<i>UGT1A4</i> *3-genotyping	13
2.3	Serumkonsentrasjonsmålinger av lamotrigin og lamotrigin 2- <i>N</i> -glukuronid	15
2.4	Statistiske analyser	16
3	Resultater	18
3.1	Inkludert datamateriale	18
3.2	Lamotrigin	20
3.2.1	Betydningen av <i>UGT1A4</i> *3 på serumkonsentrasjonen av lamotrigin	21
3.2.2	Betydningen av sigarett røyking på serumkonsentrasjonen av lamotrigin	22
3.2.3	Betydningen av komedikasjon med valproat på serumkonsentrasjonen av lamotrigin	22
3.2.4	Betydningen av andre faktorer på serumkonsentrasjonen av lamotrigin	22
3.3	Lamotrigin 2- <i>N</i> -glukuronid	23
3.3.1	Betydningen av <i>UGT1A4</i> *3 på serumkonsentrasjonen av lamotrigin 2- <i>N</i> -glukuronid	24

3.3.2	Betydningen av sigaretttrøyking på serumkonsentrasjonen av lamotrigin 2- <i>N</i> -glukuronid	24
3.3.3	Betydningen av komedikasjon med valproat på serumkonsentrasjonen av lamotrigin 2- <i>N</i> -glukuronid	25
3.3.4	Betydningen av andre faktorer på serumkonsentrasjonen av lamotrigin 2- <i>N</i> -glukuronid	25
3.4	Tilleggsanalyse for dosesammenligning basert på <i>UGT1A4</i> *3-genotype	25
4	Diskusjon.....	26
5	Konklusjon	31
	Litteraturliste	32
	Vedlegg	36

1 Introduksjon

1.1 Farmakologisk variasjon

Pasienter som får samme dose av et gitt legemiddel kan få svært forskjellig respons. Dette skyldes blant annet individuelle forskjeller i farmakokinetikk og farmakodynamikk. Serumkonsentrasjoner som nås etter doseinntak kan variere svært mye, i ekstreme tilfeller med en faktor på 100 [1]. Interindividuell variabilitet i metabolisme av legemidler regnes som en av de viktigste årsakene til farmakokinetisk variasjon, og kan føre til enten ineffektive legemiddelkonsentrasjoner gjennom økt metabolisme eller legemiddeltoksisitet gjennom redusert metabolisme [2]. For å optimalisere legemiddelbehandlingen er det økt fokus på klinisk forskning og doseindividualisering, blant annet ved hjelp av terapeutisk legemiddelmonitorering (TDM) [3]. TDM fanger opp farmakokinetisk variasjon, men ikke individuelle forskjeller i farmakodynamikk. En av årsakene til individuelle forskjeller i respons av legemidler er genetisk polymorfisme, og det er blitt estimert at genetiske faktorer står for 20-95 % av variabiliteten i respons hos pasienter ved enkelte legemidler [4].

1.1.1 Genetisk polymorfisme

Kunnskapen om hvordan genetiske faktorer påvirker legemidlers effekt og bivirkninger øker stadig, men videreføring av denne informasjonen til klinisk bruk er likevel så langt begrenset [5]. Legemiddelbehandling er for mange ineffektiv og andel ikke-responder til legemiddelbehandling er høy (25-50 %) [6]. Genetiske faktorer kan bidra til dette ved å endre legemidlets farmakokinetikk og/eller farmakodynamikk. Ulike genetiske varianter kan resultere i defekt, redusert eller økt ekspresjon/aktivitet av proteiner av betydning for både farmakokinetiske prosesser og farmakodynamisk følsomhet [7, 8]. Kjennskap til pasientens genotype før behandlingsstart gir mulighet til bedre å tilpasse legemiddelvalg og oppstartdose [8].

Innen farmakogenetikfeltet har det vært mest interesse for cytokrom P450 (CYP)-enzymer [7]. Polymorfe enzymer, særlig CYP2C9, CYP2C19 og CYP2D6, er involvert i metabolismen av 40-45 % av alle legemidler som er på markedet [7]. De senere årene har imidlertid interessen rundt polymorfisme i andre enzymsystemer og transportører økt, for eksempel

uridindifosfatglukuronyltransferase (UGT)-enzymene [9]. I tillegg til genetisk polymorfisme kan en rekke miljøfaktorer påvirke metabolismen av legemidler.

1.1.2 Ikke-genetiske faktorer

En annen viktig årsak til at pasienter kan få svært forskjellig respons av samme dose av et gitt legemiddel er interaksjoner. Interaksjoner kan skje mellom legemidler, eller mellom legemiddel og andre faktorer, som for eksempel mat, drikke og sigarettøyking. Interaksjoner kan påvirke både farmakodynamikken og farmakokinetikken av et legemiddel. Ved farmakodynamiske interaksjoner påvirker et legemiddel eller en substans et annet legemiddel direkte eller indirekte på virkestedet uten at legemidlets konsentrasjon endres. Ved farmakokinetiske interaksjoner forandrer et legemiddel eller en substans absorpsjonen, proteinbindingen, distribusjonen, metabolismen eller ekskresjonen til et annet legemiddel slik at konsentrasjonen i kroppen endres [10, 11].

Legemiddelinteraksjoner

Mange pasienter behandles med flere legemidler samtidig, både kontinuerlig mot kroniske sykdommer og i kortere perioder med for eksempel antibiotika eller smertestillende. Mulighetene for at det kan oppstå legemiddelinteraksjoner er derfor store [11]. Det angis at på 10-25 % av alle resepter hvor pasienter får mer enn ett legemiddel er det legemiddelkombinasjoner som kan medføre interaksjoner [12]. Tilsvarende tall for potensielt alvorlige interaksjoner er 1-5 % [12].

De vanligste legemiddelinteraksjonene er farmakokinetiske interaksjoner som ofte involverer hemming eller induksjon av et enzym som metaboliserer et annet legemiddel pasienten bruker. Hvis legemidlet hemmer enzymet vil dette kunne gi økt eksponering, mens indusering kan gi redusert eksponering av legemidlet som er substrat for samme enzym [11]. Utenom legemidler kan også andre faktorer påvirke eksponering og effekt av forskjellige legemidler.

Andre ikke-genetiske faktorer

Det er flere ikke-genetiske faktorer som kan bidra til variasjon i farmakologisk respons. Eksempler på dette er kjønn, alder, kosthold, sigarettøyking, somatisk sykdom, graviditet og dårlig etterlevelse [7, 8, 13]. I tillegg til næringsmidler kan også kosttilskudd være med å

endre farmakologien til et legemiddel [14]. Grapefruktjuice er et eksempel på en matvare som kan føre til økt eksponering av legemidler, blant annet statiner, kalsiumkanalblokkere og cyklosporiner [13]. Disse interaksjonene skyldes at grapefruktjuice hemmer CYP3A4-aktivitet i tarmveggen, som resulterer i at legemidlets serumkonsentrasjon øker [15].

Det er flere studier som viser at ekspresjonen og aktiviteten av CYP-enzymmer også kan endres ved infeksjon eller når en inflammatorisk respons er aktivert [7, 16]. UGT-enzymmer er ikke studert i like stor grad, men det er vist at også disse endres ved blant annet inflammasjon og bakteriell infeksjon [17]. Felles for mange av disse faktorene er at de påvirker legemidlets metabolisme i kroppen og dermed påvirker eliminasjonen av legemidlet.

1.2 Eliminasjon av legemidler

Eliminasjon av legemidler fra kroppen skjer ved hjelp av to prosesser; metabolisme og ekskresjon. Metabolisme involverer enzymatisk omdannelse av en kjemisk enhet til en annen i kroppen. Ekskresjon er eliminasjon av kjemisk uforandrede legemidler eller deres metabolitter fra kroppen. Hovedveiene for ekskresjon av legemidler og metabolitter er nyrene, det hepatobiliære systemet og lungene, mens legemiddelmetabolisme hovedsakelig skjer i leveren. Metabolisme av legemidler involverer to reaksjonstyper, ofte omtalt som fase I- og fase II-reaksjoner. Fase I-reaksjoner er katabolske og CYP-enzymene er viktigst for disse reaksjonene. Fase II-reaksjoner er anabolske og for disse reaksjonene er UGT-enzymene viktigst. Begge reaksjonstypene bidrar til økt vannløselighet, noe som videre fasiliteterer renal eller biliær ekskresjon [11, 18].

1.3 UGT-systemet

UGT-enzymmer spiller en viktig rolle i ekskresjonen av både endogene og eksogene substanser [19]. Disse enzymene er membranproteiner som katalyserer glukuronidering, altså konjugering av glukuronsyre, til forskjellige forbindelser [3, 9]. UGT-mediert glukuronidering står for ca 35 % av fase II-metabolisme av legemidler [3]. Glukuronidering fører til større strukturelle endringer i molekylet og resulterer som regel i farmakologisk inaktive forbindelser [3, 18]. Et unntak er morfin, der metabolitten morfin-6-glukuronid har sterkere analgetisk potens enn modersubstansen [20].

UGT-enzymene deles inn i to familier, UGT1 og UGT2 [19]. Hvert gen i UGT1-familien har fem ekson, hvor første ekson er unikt for hvert gen og de fire siste er identiske mellom genene. Det humane UGT1-genet er på kromosom 2q37 og inneholder 13 forskjellige promotorer/første ekson og et felles sett av ekson 2-5 [21]. Det *N*-terminale domenet av proteinet bestemmer substrat-spesifisiteten, og det felles *C*-terminale domenet er viktig for å binde glukuronsyre [22].

Singel nukleotid polymorfisme (SNP) er utbytting av et enkelt nukleotid i DNA-sekvensen, noe som er blitt identifisert i de fleste UGT-gener [23]. Genetisk polymorfisme i UGT-enzymene kan føre til endret clearance av substratene for disse enzymene, ved å endre enten ekspresjonsnivået eller aktiviteten til de forskjellige enzymene [23]. Noen av disse polymorfismene er tilknyttet risiko for å utvikle sykdom eller sårbarhet overfor bivirkninger av legemidler [19].

1.3.1 UGT1A4

Det er identifisert 25 ulike enzymer i UGT1A- og UGT2B-familien i mennesker [21]. Av disse regnes UGT1A4 som sentralt i glukuronidering av legemidler og deres metabolitter. UGT1A4 katalyserer glukuronidering av blant annet primære, sekundære og tertiære aminer, som forekommer i flere forskjellige legemidler [9]. UGT1A4-proteinet er hovedsakelig uttrykt i lever, galle, tykktarm og tynntarm [9]. Det er beskrevet 109 SNPer i *UGT1A4*-genet [24]. Polymorfisme i *UGT1A4*-genet ble første gang beskrevet i 2004 [23, 25]. Denne studien hadde som målsetning å identifisere polymorfismer i *UGT1A*-genet, og detekterte blant annet en polymorfisme på kodon 48 (T-til-G-transversjon). Dette førte til et aminosyrebytte fra leucin til valin, også omtalt som L48V og *UGT1A4**3 [25]. Denne polymorfismen ble først knyttet til redusert UGT1A4-aktivitet *in vitro* [25], og det er etter hvert blitt en del studier som har undersøkt betydningen av denne mutasjonen for metabolisme av legemidler både *in vitro* og *in vivo*.

1.3.2 UGT1A4*3

*UGT1A4**3 er en relativt hyppig polymorfisme i de fleste populasjoner, og studier har vist at allelfrekvensen varierer noe mellom ulike etniske grupper [3, 9, 19]. Allelfrekvensen er rapportert til å være 8 %, 10 %, 13 %, 13 % og 16 %, og 28 % i henholdsvis

afroamerikansk/kaukasisk, tysk, tyrkisk, japansk og thailandsk befolkning (*tabell 1*) [9, 19, 22, 25-27].

Tabell 1: Allelfrekvens for *UGT1A4*3* i ulike etniske grupper.

Etnisk gruppe	Allelfrekvens
Afroamerikanere / kaukasere [9]	8 %
Tyskere [25]	10 %
Tyrkere [26]	13 %
Japanere [22]	13 %
Japanere [19]	16 %
Thaier [27]	28 %

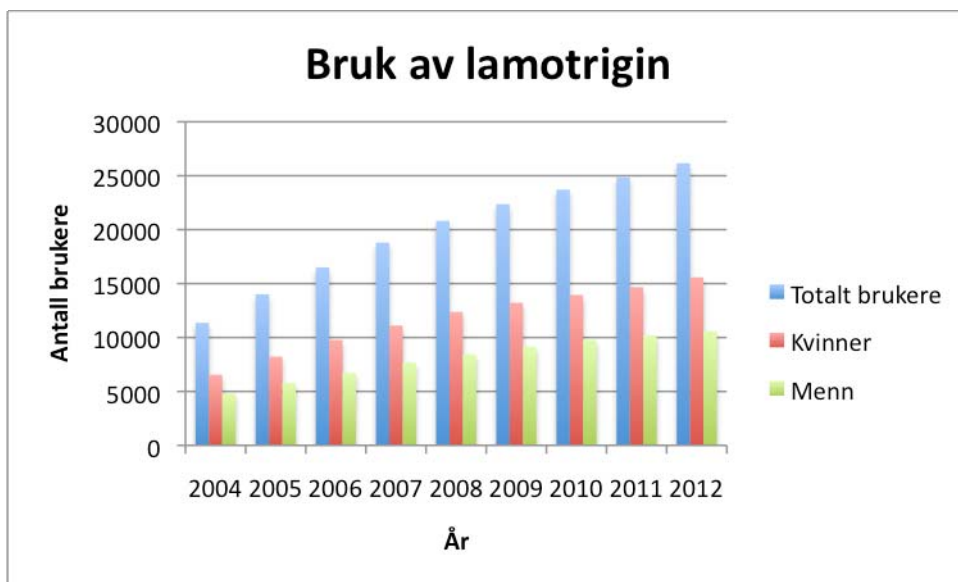
I litteraturen er det motstridende opplysninger på hvordan *UGT1A4*3*-polymorfismen påvirker enzymaktiviteten. Ehmer *et al.* (2004) viste at det var total fravær av glukuronidering av steroidsubstrater via *UGT1A4*3* [25]. En studie med japanske, friske frivillige viste derimot at genvarianten kan føre til enten en økt eller redusert glukuronideringsaktivitet, avhengig av substrat [19].

I 2011 ble det utført en *in vitro*-studie for å se på mulige forskjeller i enzymkinetiske parametere mellom *UGT1A4*3* og villtypen. Michaelis Menten-konstanten (K_m), maksimalhastighet for en gitt enzymatisk reaksjon (V_{max}) og intrinsic clearance (CL_{int}) ble målt av dihydrotestosteron, transandrosteron, lamotrigin og tamoksifen [23]. Studien viste at *UGT1A4*3* hadde høyere CL_{int} på dihydrotestosteron-glukuronidering, lavere CL_{int} overfor transandrosteron og ingen endring i CL_{int} av tamoksifen sammenlignet med villtypen, men denne påvirkningen er nok ubetydelig *in vivo* [23]. Når det gjelder lamotrigin-glukuronidering viste *UGT1A4*3* redusert CL_{int} sammenlignet med villtypen [23]. Basert på at *UGT1A4* antas å være enzymet som hovedsakelig metaboliserer lamotrigin, ville man forventet en reduksjon i lamotrigin clearance og økt serumkonsentrasjon *in vivo* [23]. Gulcebi *et al.* (2011) viste imidlertid at pasienter som var heterozygote bærere av *UGT1A4*3*-mutasjonen hadde reduserte serumkonsentrasjoner av lamotrigin sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet [26]. Disse motstridende funnene illustrerer behov for flere og større *in vivo*-studier som undersøker betydningen av *UGT1A4*3* for variasjon i farmakokinetikken av lamotrigin, et mye brukt legemiddel innen både nevrologi og psykiatri.

1.4 Lamotrigin

1.4.1 Klinisk bruk

Lamotrigin ble introdusert i 1986 som et antiepileptikum [28]. Indikasjonen for bruk av lamotrigin er epilepsi hos barn og voksne, men er også utvidet til forebygging av depressive episoder hos pasienter med bipolar lidelse I hos voksne [29]. Siden 2004 har det vært en jevn økning av antall pasienter som bruker lamotrigin (*figur 1*). Det er flest brukere i alderen 40 til 49 år, og andelen kvinner er på ca 60 % [30]. I 2012 var det ca 26 000 personer som hentet ut lamotrigin fra norske apotek [30].



Figur 1: Bruk av lamotrigin fra 2004 til 2012. Tall hentet fra reseptregisteret [30].

Lamotrigin tolereres vanligvis godt, men vanlige bivirkninger inkluderer hodepine, søvnighet, ataksi, svimmelhet, dobbeltsyn og tåkesyn [29]. Enkelte opplever også i sjeldne tilfeller alvorlig hudutslett. Risiko for hudutslett er assosiert med ung alder, høye startdoser og rask doseøkning av legemidlet, og de fleste tilfeller av utslett oppstår i løpet av de første ukene av behandlingen [29]. I tillegg øker risikoen for hudutslett hos pasienter som samtidig bruker valproat. Mange av bivirkningene er konsentrasjonsavhengige og serumkonsentrasjonsmålinger av legemidlet kan bidra til å redusere risikoen for å utvikle bivirkninger [29]. Referanseområdet til lamotrigin ligger mellom 12 og 50 $\mu\text{mol/L}$ [31].

Bipolar lidelse

Bipolar lidelse er en sykdom karakterisert av maniske og depressive episoder [32]. Det er en svært arvelig sykdom, og studier har vist en arvelig komponent på mellom 62 og 85 % [33, 34]. Bipolare lidelser deles i følge DSM-IV inn i type I-II og syklotymi [35]. Bipolar lidelse type I karakteriseres av maniske eller blandede episoder og ofte depresjoner. Både i manisk og depressiv fase fører symptomene til alvorlig funksjonsnedsettelse eller psykose [10]. For å diagnostisere bipolar I må personen ha hatt minst to episoder med depresjon, mani, hypomani eller blandet episode, og én av disse må være en manisk eller blandet episode [36].

Funksjonsnedsettelsen er mindre ved bipolar II, som karakteriseres av depresjoner og hypomane episoder. De psykotiske symptomene er fraværende. I tillegg brukes betegnelsen bipolar III når det er legemidler eller rusmidler som utløser hypomanier. Syklotymi brukes som begrep for vedvarende ustabilitet i stemningsleiet over tid. Disse pasientene har episoder med depresjon og økt stemningsleie i minst to år, hvor episodene ikke er alvorlige nok til at pasienten diagnostiseres med bipolar eller depressiv lidelse [10]. "Rapid cycling" er den mest alvorlige formen for bipolar lidelse, og karakteriseres med et veldig svingende stemningsleie. Stemningsleiet kan variere med dagers eller timers mellomrom. Pasientene har minst 4 sykdomsperioder per år, som kan være ulike kombinasjoner av depresjon, hypomani, mani og blandede episoder. Fra 14 til 53 % av pasienter med bipolar I og II har denne formen [37].

Vanlig debutalder for bipolar lidelse er 20 til 25 år, men sykdommen kan hos enkelte pasienter oppstå allerede som barn [36, 38-40]. Ved hjelp av retrospektive studier hos voksne er det rapportert at 60 % hadde forekomst av symptomer før fylte 20 år [41]. En undersøkelse gjort i Oslo estimerte livstidsforekomsten av bipolar I til 1,6 % [42]. I USA er livstidsforekomsten av bipolar I 1 %, og 3-7 % for hele det bipolare spekteret [43]. Først på 1990-tallet ble bipolar lidelse ansett som en sykdom som også kunne ramme barn og unge under 16 år [44]. Forekomst og kjennetegn hos barn og ungdom er vanskelig å kartlegge da barn oftere har naturlige svingninger, og avgrensningen mot ADHD kan være vanskelig. Det er svært høye anslag for komorbiditet mellom bipolar lidelse og ADHD under ca ti år [44]. Lidelsen rammer personer fra alle samfunnslag, og grovt sett rammes like mange kvinner som menn [10, 36]. Personer med bipolar lidelse har ofte tilleggssymptomer, som panikkangst, generell angst eller spiseforstyrrelser. Det er i tillegg vanlig med misbruk av alkohol, beroligende medisiner eller narkotika for å dempe angst og uro [10].

Bipolar lidelse kan ikke helbredes, men sykdommen kan stabiliseres med hjelp av stemningsstabiliserende legemidler og psykososial oppfølging. Ikke-medikamentell behandling innebærer blant annet å opplyse pasient og pårørende om alle sider ved sykdommen. De fleste trenger i tillegg medikamentell behandling som profylakse resten av livet, noe som gjør det relevant med individualisering av behandlingen. Legemidler kan forkorte episodene og forhindre nye episoder. Ved nye episoder kan legemidler i tillegg gjøre disse episodene mindre alvorlige. Det er flere legemidler som brukes i behandlingen av bipolar lidelse, blant annet litium, valproat, karbamazepin og lamotrigin [10, 36]. Litium har lenge vært førstevalg i behandling av bipolar lidelse, men nedsatt kognitiv funksjon er en vanlig bivirkning [45]. Det er vist at pasienter som bruker lamotrigin ikke har like stor reduksjon i kognitiv funksjon sammenlignet med blant annet pasienter som bruker litium [46]. Flere av legemidlene som brukes i behandlingen av bipolar lidelse ble opprinnelig utviklet som antiepileptika.

Epilepsi

Epilepsi er en samlebetegnelse på ulike sykdommer som fører til epileptiske anfall. De epileptiske anfallene skyldes funksjonsforstyrrelser i hjernens nerveceller [3, 10]. Når hjernens normale elektriske aktivitet forstyrres kan dette gi krampeanfall. Partielle anfall involverer nerveceller i en spesiell del av hjernen. Symptomene kan være enkle, med for eksempel motoriske, sensoriske eller autonome manifestasjoner og bevart bevissthet, eller komplekse, hvor man kan miste bevisstheten. Anfallene kan gå over i tonisk-kloniske anfall, som kan gi både tilstivning og krampetrekning i armer og ben. Hvis anfallet påvirker nerveceller over hele hjernen kalles det generaliserte anfall, og disse anfallene kan føre til bevissthetstap. Forskjellige anfallstyper er tonisk-kloniske, toniske, atoniske, myoklone og absensanfall [10]. Epilepsi diagnostiseres ved to eller flere uprovoserte anfall [3].

Forekomst av epilepsi i Norge er ca 0,7 % og er høyest hos små barn og hos eldre [10]. Farmakologisk behandling deles inn i anfallsforebyggende og anfallskuperende tiltak. Hvis man ikke oppnår anfallskontroll med legemidler ved fokal epilepsi bør kirurgisk behandling vurderes [10]. Det finnes en rekke legemidler som brukes i behandlingen av epilepsi. Lamotrigin er sammen med karbamazepin og oksakarbazepin førstevalg mot partielle anfall og sammen med valproat førstevalg ved tonisk-kloniske anfall [10]. De fleste legemidler som

brukes i behandlingen av epilepsi virker via hemming av spenningsstyrte natriumkanaler og frigjøring av glutamat, eller via effekt på GABA eller dens reseptor.

1.4.2 Farmakodynamikk

Lamotrigin hemmer spenningsstyrte natriumkanaler, som fører til at varig gjentatt utladning av neuroner og glutamatfrigjøring hemmes [29]. Glutamat er en nevrotransmittor som har en nøkkelrolle ved generering av epileptiske anfall, og det er sannsynligvis dette som bidrar til lamotrigins krampestillende egenskap. Ved bipolar lidelse er ikke virkningsmekanismen for terapeutisk effekt av lamotrigin kjent, men sannsynligvis er interaksjon med spenningsstyrte natriumkanaler viktig [29].

1.4.3 Farmakokinetikk

Ved oral dosering blir lamotrigin fullstendig absorbert [29, 47]. Maksimal plasmakonsentrasjon oppnås ca 2,5 timer etter oral administrasjon [29].

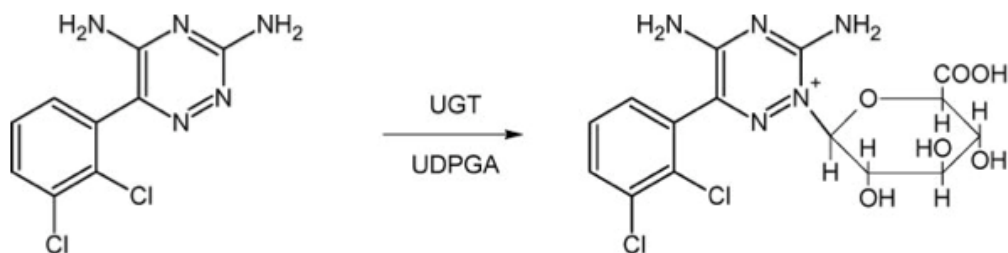
Plasmaproteinbindingen er ca 55 %, og distribusjonsvolumet er 0,92-1,22 l/kg [29].

Lamotrigin metaboliseres hovedsakelig via UGT1A4, ved konjugering med glukuronsyre, til lamotrigin 2-*N*-glukuronid [48]. Clearance og halveringstid er doseuavhengig [29].

Halveringstid i plasma hos friske personer er ca 33 timer, men denne påvirkes i stor grad av annen samtidig legemiddelbruk [29]. Farmakokinetikken er vist å være lineær opp til 450 mg/døgn, som er den høyeste undersøkte enkeltdosen [29].

1.4.4 Metabolisme av lamotrigin

Hepatisk metabolisme står for hovedeliminasjonen av lamotrigin, hovedsakelig via *N*-glukuronidering [49]. Etter en oral dose av lamotrigin er opp til 90 % gjenvunnet i urinen som et farmakologisk inaktiv kvartært glukuronid på nitrogenatomet i posisjon 2 på triazinringen (*figur 2*) [49, 50].



Figur 2: Metabolisme av lamotrigin til lamotrigin 2-*N*-glukuronid. Hentet fra Rowland *et al.* (2006) [49].

Rundt 10 % av lamotrigindosen skilles ut uforandret renalt. Andre metabolitter finnes kun i små mengder hos mennesker [50]. Lamotrigin metaboliseres hovedsakelig via UGT1A4, men UGT1A1 og UGT2B7 bidrar også til glukuronideringen [3, 49].

1.4.5 Interaksjoner med lamotrigin

Lamotrigin kan indusere sin egen metabolisme, men dette vil sannsynligvis ikke ha kliniske konsekvenser. Derimot har visse legemidler betydelig effekt på glukuronideringen av lamotrigin. Legemidler som er vist å være hemmere av UGT-enzymet, og som dermed potensielt kan påvirke lamotriginmetabolismen, inkluderer diklofenak, naproksen, diazepam, oksazepam og valproat [51]. Valproat hemmer signifikant glukuronideringen som fører til en nesten dobbel gjennomsnittlig halveringstid av lamotrigin [47]. Legemidler som signifikant induserer glukuronideringen, og gir redusert serumkonsentrasjon, inkluderer blant annet fenytoin, karbamazepin, fenobarbital og kombinasjonen etinyløstradiol og levonorgestrel [29].

Flere studier viser at gravide har lavere lamotriginkonsentrasjon på grunn av økt clearance [48, 50, 52]. Reimers *et al.* (2011) viste at økt renal blodflow er hovedårsaken til serumkonsentrasjonsfallet i lamotrigin og lamotrigin 2-*N*-glukuronid i tidlig graviditet [50]. Senere i graviditeten er det østradiolindusert økt glukuronidering som fører til videre fall i serumkonsentrasjonen av lamotrigin og økt metabolitt/legemiddel-ratio [50]. Hos kvinner som vurderer å bli gravide må behovet for antiepileptisk behandling vurderes. Hvis behandling med lamotrigin er nødvendig under graviditeten, anbefales bruk av lavest mulig terapeutisk dose og monoterapi. Lamotrigin passerer over i morsmelk i varierende konsentrasjoner og det er observert lamotriginnivåer hos nyfødte på opptil 50 % av morens nivå [29].

Kvinner som bruker hormonelle antikonseptiva, bestående av en kombinasjon av etinyløstradiol og levonorgestrel, vil ha omtrent to ganger økt clearance av lamotrigin og dermed redusert serumkonsentrasjon [29]. Det er vist at etinyløstradiol, og ikke progesteron, er årsaken til denne reduksjonen [53]. Doserelaterte bivirkninger i den pillefrie uken kan ikke utelukkes, og det bør derfor vurderes andre prevensjonsmidler [29, 53]. Etinyløstradiol, som glukuronideres via UGT1A1, er en kjent induser av UGT-enzymet og kan derfor øke clearance av legemidler som glukuronideres [53]. Derfor er det rimelig å anta at reduksjon i serumkonsentrasjonen av lamotrigin er på grunn av økt glukuronidering. Antikonseptiva som kun inneholder progesteron er vist å ikke påvirke serumkonsentrasjonen av lamotrigin [53].

Andel røykere er mye høyere blant pasienter med psykisk sykdom sammenlignet med befolkningen generelt [54, 55]. En studie viste at røykere hadde en signifikant 16 % redusert serumkonsentrasjon av lamotrigin sammenlignet med ikke-røykere [56]. I studien ble det ikke vist signifikant sammenheng mellom antall røyk hver dag og dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin [56].

Det er også andre spesielle pasientgrupper som har generelle doseanbefalinger for lamotrigin. Hos pasienter med signifikant nedsatt nyrefunksjon eller leverfunksjon må dosen reduseres. Nyrefunksjonen reduseres med alderen [10], men det er ingen generell anbefaling med dosejustering hos eldre over 65 år siden farmakokinetikken av lamotrigin ikke endres signifikant med alderen [29]. Det er heller ikke observert at dosejustering mellom kvinner og menn er nødvendig med tanke på serumkonsentrasjonen av lamotrigin [57-59].

1.5 Hensikt

Det er stor individuell variasjon i farmakokinetikken av lamotrigin. Tidligere studier har evaluert enkeltfaktorer av betydning for denne variasjonen, men det mangler studier som har undersøkt kombinasjonen av farmakogenetisk variasjon (*UGT1A4*3*) og aktuelle miljøfaktorer på både modersubstans og hovedmetabolitt i større pasientmaterialer. Hensikten med denne studien var å studere effekten av *UGT1A4*3*, komedikasjon med valproat og sigarett røyking på dosejusterte serumkonsentrasjoner av lamotrigin og metabolitten lamotrigin 2-*N*-glukuronid i pasienter basert på data/prøvemateriale fra en TDM-database.

2 Materiale og metoder

2.1 Datamateriale

Studien ble basert på serumprøver og pasientdata fra biobanken ved SFP, Diakonhjemmet Sykehus. Pasientdata ble retrospektivt hentet ut fra labdatasystemet ved SFP, som har en søkefunksjon som muliggjør kombinasjonssøk etter pasienter som både har fått utført farmakogenetisk analyse og serumkonsentrasjonsmålinger. Studien inkluderte alle pasienter, uavhengig av alder og kjønn, som både hadde målt serumkonsentrasjon av lamotrigin i tidsrommet fra 1. januar 2010 til 30. august 2012 og utført farmakogenetisk analyse ved SFP. De tilhørende rekvisisjonsskjemaene fra de inkluderte serumprøvene ble gjennomgått og relevante pasient- og prøveopplysninger registrert. I tillegg til serumkonsentrasjonsmåling av lamotrigin ble informasjon om tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetaking, dosering, komedikasjon, om pasienten røykte eller ikke, graviditet, alder og kjønn hentet ut fra labdatasystemet. I forbindelse med gjennomgang av rekvisisjonsskjemaene ble pasienter ekskludert etter følgende kriterier:

- Usikkerhet rundt tidspunkt for inntak av legemidlet og/eller tidspunkt for prøvetaking
- Nøyaktig dosering av lamotrigin ikke oppgitt
- Tidsintervall mellom siste dose og prøvetaking < 10 timer eller > 30 timer
- Ikke-påvisbar konsentrasjon av lamotrigin i prøven
- Oppstart eller doseendring angitt mindre enn 5 døgn før blodprøvetaking

Hos pasienter med flere serumkonsentrasjonsmålinger ble alle prøver, som ikke var omfattet av eksklusjonskriteriene, inkludert.

Studien var forhåndsgodkjent av Forskningsutvalget ved Diakonhjemmet Sykehus. Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk mente studien kunne gjennomføres uten godkjenning da studien falt utenfor helseforskningslovens virkeområde.

2.2 *UGT1A4**3-genotyping

Lagrede DNA-ekstrakter fra tidsrommet 2004 til 2012 ble hentet ut fra biobanken ved SFP. De fleste av DNA-prøvene var opprinnelig analysert med tanke på mutasjoner i *CYP*-gener, men ble i dette prosjektet reanalysert for å påvise eventuell tilstedeværelse av mutasjonen *UGT1A4**3. Alle reanalyser av lagrede DNA-ekstrakter ble gjennomført i løpet av en tidsperiode på seks uker. Ved SFP er *UGT1A4**3-genotyping nylig blitt etablert som en rutinemetode og ble derfor benyttet i dette prosjektet (detaljer angitt under).

Polymerase kjederaksjon (PCR):

Analysen av *UGT1A4**3 var manuell og basert på amplifisering av området rundt den aktuelle mutasjonen (PCR) etterfulgt av allelspecifikk kutting av PCR-produktet med restriksjonsenzymet Eco147I. Reagens til PCR-reaksjonen ble laget på PCR-fri lab og gjennomført etter følgende prosedyre: Reagensene til PCR-løsningen ble tint, mikset, sentrifugert ned og satt på is. Reagensene stod på is under arbeidet da særlig dNTP og polymerasen er ustabile ved romtemperatur. Løsningen ble laget i 2 ml eppendorfrør på is. De største volumene ble pipettert først og polymerasen ble tilsatt i løsningen til slutt. Løsningen ble forsiktig blandet på whirlimikser og sentrifugert. 24 µl av PCR-løsningen ble fordelt i en 96-brønners mikrotiterplate. Deretter ble 1 µl av hver kontroll og pasientprøve tilsatt i hver sin brønn. 96-brønnersplaten ble så forseglet og sentrifugert i 1 minutt og 15 sekunder. Prøvene ble deretter kjørt på PCR (Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR, Life Technologies, Foster city, CA, USA) i ca 1 time og 50 minutter. Deretter ble platen satt i kjøleskap inntil restriksjonskutting.

Restriksjonskutting:

Restriksjonskutteløsningen ble laget på PCR-fri lab. Enzymløsningen ble laget på is i et 0,5 ml eppendorfrør, blandet forsiktig og sentrifugert. 12 µl av enzymløsningen ble fordelt i en ny 96-brønners mikrotiterplate. Denne platen ble tatt med inn på analyselaben der 8 µl PCR-produkt ble tilsatt i hver sin brønn. Platen ble så inkubert ved 37°C i varmeskap i minst 2 timer.

Gelelektroforese:

PCR-produktene etter kutting med restriksjonsenzym ble så detektert ved elektroforese på en 2 % agarosegel. Gelen ble laget av 1,4 g agarose tilsatt 70 ml 1xTAE-buffer (980 ml destillert vann, 20 ml 50xTAE konsentrert buffer) i en kolbe og ristet forsiktig til løsningen så homogen ut. Løsningen ble så varmet opp i mikrobølgeovn til den begynte å koke. Gelløsningen ble deretter avkjølt til ca 60°C og tilsatt to dråper etidiumbromid. Gelen ble støpt i en form med kammer og polymerisert i ca 30 minutter. Gelen ble så plassert i et elektroforesekar (Bio-rad, Hercules, CA, USA) med 1xTAE-buffer. I en ny 96-brønners mikrotiterplate ble 2,5 µl "Gel loading dye" fordelt til både markører, kontroller og pasientprøver. Til markørene ble det tilsatt 1 µl "DNA-ladder" (50 basepar) og 10 µl destillert vann. 12 µl restriksjonskuttet PCR-produkt ble tilsatt i de resterende brønnene. 14 µl av både markørene og PCR-produktene ble applisert i brønnene på gelen. Det ble både startet og avsluttet med en markør. Fragmentene ble separert ved 75V i 70 min.

Deteksjon og resultatvurdering:

Gelen ble tatt ut av elektroforesekar og lagt på transilluminatoren i fotokabinettet. Der ble gelen belyst med UV-lys og ved hjelp av programmet "GeneSnap" (Syngene, Cambridge, England) ble prøvene detektert og resultatene ble så avlest. De ulike *UGT1A4**3-genotypene ga båndmønster som vist i figur 3.

	Villtype	Heterozygot	Homozygot
612 bp		—	—
360 bp	—	—	
288 bp	—	—	

Figur 3: Båndmønster for de ulike *UGT1A4**3-genotypene ved avlesning av prøveresultatene etter restriksjonskutting og gelelektroforese.

Alle reagensene som ble brukt er oppgitt i vedlegg 1.

2.3 Serumkonsentrasjonsmålinger av lamotrigin og lamotrigin 2-*N*-glukuronid

Serumkonsentrasjonsmåling av lamotrigin var tilgjengelig fra historiske rutineanalyser for alle pasientprøvene. For en del av de inkluderte pasientene (n=265) var en rest av serumprøven (n=431) blitt lagret for reanalyse av metabolitten lamotrigin 2-*N*-glukuronid. Dette gjaldt pasienter der det var sendt inn prøve for analyse av lamotrigin mellom 23. november 2011 og 30. oktober 2012. Reanalyse av disse prøvene for konsentrasjonsbestemmelse av metabolitten lamotrigin 2-*N*-glukuronid ble gjennomført over en tidsperiode på elleve dager. Analysemetoden som ble brukt til konsentrasjonsbestemmelse av lamotrigin 2-*N*-glukuronid var en modifisert versjon av metoden for rutinebestemmelse av lamotrigin. For å kvantifisere lamotrigin 2-*N*-glukuronid ble det opprettet en standardkurve i hver analysesekvens. Standardkurvene bestod av konsentrasjonene 1, 2.5, 5 og 10 µM. På grunn av begrenset mengde rensustans lot det seg ikke gjøre å validere analysemetoden.

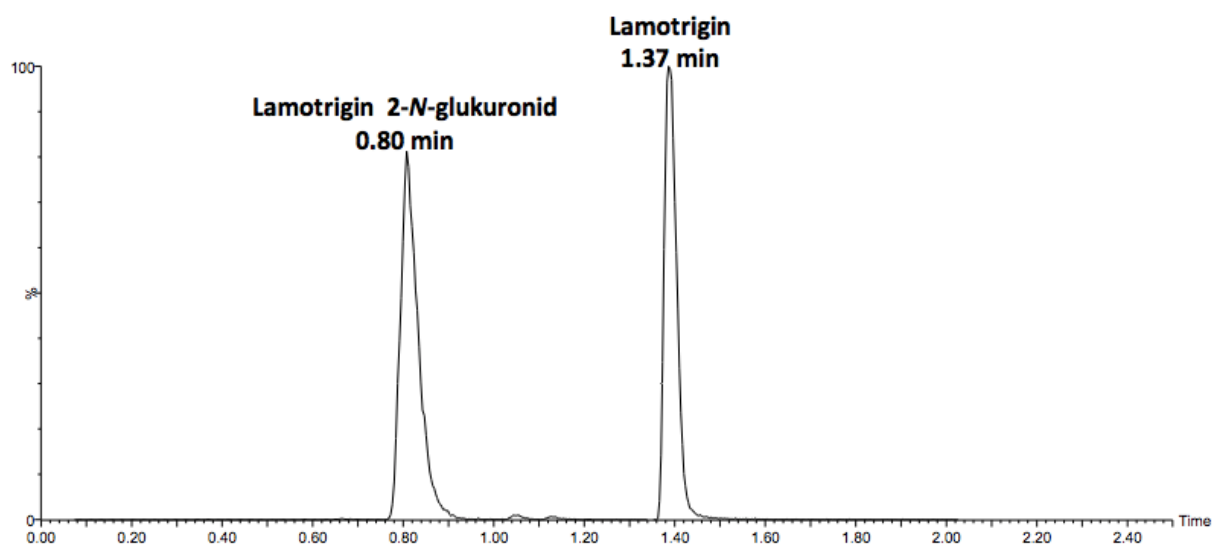
Internstandard var imipramin (Novartis, Basel, Sveits). Renstandarden av lamotrigin var anskaffet fra GlaxoSmithKline, Durham, England (renhet >99,9 %). Renstandarden av lamotrigin 2-*N*-glukuronid var anskaffet fra Chiron AS, Trondheim, Norge (renhet >99,0 %).

Prøveopparbeidelse:

Det ble brukt samme prøveopparbeidelse for konsentrasjonsbestemmelse av lamotrigin 2-*N*-glukuronid som rutinemessig blir brukt for lamotrigin. Prøvene ble opparbeidet ved proteinfelling. Engangsreagensglassene ble satt på is før opparbeidelsen begynte for å sikre en optimal felling, siden proteiner har lavest løselighet ved 0-4°C. Serum, standard- og kontrolløsninger ble pipettert over i reagensglassene. Ved for lite serum i pasientprøvene ble prøvene fortynnet med blank serum. Det ble tilsatt fellingsløsning (450 ml acetonitril, 50 ml metanol og 1 ml mM imipramin), før reagensglassene ble korket og satt i fryseren. Deretter ble prøvene sentrifugert. Prøvene ble ristet etter hvert trinn. Supernatanten ble pipettert ut og over i vialer, korket og plassert i autosampler for analyse. I tillegg ble det pipettert ut destillert vann i en vial som ble brukt til matriksfri prøve.

UPLC MS/MS-analyse:

Både analysen for konsentrasjonsbestemmelse av lamotrigin og lamotrigin 2-*N*-glukuronid ble gjort ved hjelp av UPLC MS/MS. Det ble injisert et prøvolum på 1,0 µL og analysetiden for UPLC MS-MS-metoden var 5 minutter per prøve. Alle instrumenter og programvarer som ble brukt var fra Waters (Milford, MA, USA). Analytten ble detektert med positiv elektrospay (ESI+). Analysekolonnen var av type Aquity UPLC BEH Shield RP18 (1,7 µm, 1*100 mm). Gradienteluering var ved 40°C med bruk av 10 mM ammoniumacetatbuffer med pH 4,8 og 10-90 % acetonitril. Masseovergangen som ble benyttet på lamotrigin var 256 > 211 m/z, og retensjonstiden var 1,37 minutter (*figur 4*). På lamotrigin 2-*N*-glukuronid var masseovergangen som ble benyttet 432 > 256 m/z, og retensjonstiden var 0,8 minutt (*figur 4*).



Figur 4: Kromatogram av lamotrigin 2-*N*-glukuronid og lamotrigin analysert på UPLC MS/MS.

2.4 Statistiske analyser

For å finne betydningen av *UGT1A4**3, komedikasjon med valproat og sigaretttrøyking for serumkonsentrasjonene av lamotrigin og lamotrigin 2-*N*-glukuronid ble dosejusterte serumkonsentrasjoner av lamotrigin og metabolitten beregnet. Dette for å kunne sammenlikne serumkonsentrasjonene mellom pasienter som ble behandlet med ulike doser. C/D-ratioen for lamotrigin og lamotrigin 2-*N*-glukuronid ble satt som avhengig variabel i hver sin statistiske modell. De statistiske analysene ble utført i SPSS® versjon 20 (IBM® SPSS® Statistics, Armonk, NY, USA), og siden studien inkluderte flere målinger per pasient ble lineær mixed

model benyttet. Det primære målet med studien var å undersøke betydningen av *UGT1A4**3, komedikasjon med valproat og sigarettøyking på dosejusterte serumkonsentrasjoner av lamotrigin og metabolitten. I tillegg til disse faktorene ble samtidig bruk av litium, fluoksetin og/eller topiramet, graviditet, bruk av kombinasjonsantikonseptiva, kjønn og alder, og tidsdifferansen mellom siste doseinntak og prøvetaking satt som kategoriske kovariater. Den statistiske analysen ble utført ved å inkludere alle kovariatene i modellen og etter hver analyse ble den minst signifikante kovariaten ekskludert til alle kovariatene i analysen av lamotrigin var $p < 0,1$. Siden betydningen av *UGT1A4**3 var et av hovedmålene for studien, ble alle nivåer av *UGT1A4**3-genotype inkludert i modellen uavhengig av signifikans. Kovariatene inkludert i den endelige modellen var *UGT1A4**3-genotype, komedikasjon med valproat og sigarettøyking. De samme kovariatene ble brukt i analysen av lamotrigin 2-*N*-glukuronid, uten hensyn til signifikans. Den statistiske analysemetoden korrigerer for alder og tidsdifferansen mellom siste doseinntak og prøvetaking. Det ble benyttet logaritmetransformert C/D-ratio for å tilstrebe normalfordelte data. Estimatene fra mixed model-analysene ble tilbaketransformert og presentert på opprinnelig skala. For utarbeidelse av grafiske framstillinger ble GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc, San Diego, CA, USA) brukt.

3 Resultater

3.1 Inkludert datamateriale

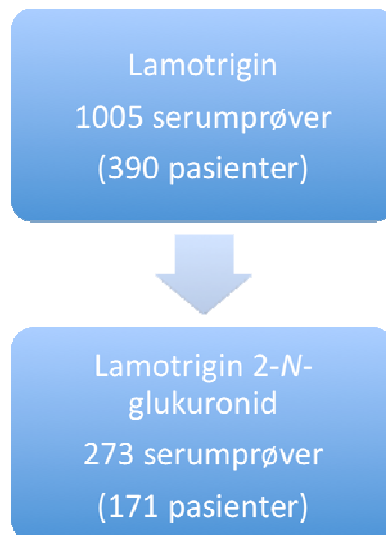
Det ble gjennomgått totalt 1506 pasientprøver fra 576 pasienter hvor det var blitt utført både serumkonsentrasjonsmåling av lamotrigin i tidsrommet 1. januar 2010 til 31. august 2012 og farmakogenetisk analyse. Det ble funnet 390 DNA-ekstrakter i biobanken ved SFP og disse ble analysert med tanke på tilstedeværelse av *UGT1A4**3. Allelfrekvensen av *UGT1A4**3 var 8,6 % [95 % KI: 6,8;10,8].

Etter eksklusjon av pasientprøver i henhold til nevnte kriterier i *tabell 2* ble i alt 1005 serumprøver fra 390 pasienter inkludert i studien. Hovedårsakene til eksklusjon var manglende informasjon om *UGT1A4**3-genotype, da disse DNA-ekstraktene ikke ble funnet i biobanken, og manglende informasjon om dose og/eller tid mellom siste dose og prøvetaking. De inkluderte prøvene som var sendt inn for rutineanalyse av lamotrigin mellom 23. november 2011 og 30. oktober 2012 ble lagret for reanalyse av metabolitten lamotrigin 2-*N*-glukuronid (*figur 5*).

Tabell 2: Oversikt over eksklusjonsårsaker og antall ekskluderte serumprøver fra studien.

	Antall serumprøver
Antall pasientprøver etter innledende søk	1506
Eksklusjonsårsaker	
Manglende informasjon om <i>UGT1A4</i> *3-genotype ¹	286
Manglende informasjon om dose og/eller tidsdifferanse	99
Tid utenfor (<10 eller >30 timer)	69
Mistanke om manglende etterlevelse ²	17
Lamotriginkonsentrasjon under kvantifiseringsgrense	11
Komedikasjon med hormonelle kombinasjonsantikonseptiva ³	11
Oppstart eller doseendring innen de siste fem døgn	6
Graviditet ³	2
Antall pasientprøver etter eksklusjon	1005

¹: Disse prøvene ble ekskludert da DNA-ekstraktene ikke ble funnet i biobanken, ²: På rekvisisjonskjemaene var det angitt avvikende etterlevelse, ³: Disse serumprøvene ble ekskludert da det ikke var nok prøver til å kunne studere effekt og fordi det er kjent at disse pasientgruppene får reduserte serumkonsentrasjoner av lamotrigin.



Figur 5: Oversikt over prøvematerialet. Totalt 1005 serumprøver fra 390 pasienter ble inkludert i studien. Av disse ble 273 serumprøver fra 171 pasienter reanalysert for metabolitten lamotrigin 2-*N*-glukuronid.

Fordelingen av antall pasientprøver i de respektive undergruppene, samt deskriptive data, er presentert i *tabell 3*. For den statistiske analysen av lamotrigin utgjorde serumkonsentrasjonsmålinger fra pasienter uten påvist *UGT1A4**3 83,8 % [81,4;85,9] av prøvematerialet, gruppen med heterozygote pasienter for *UGT1A4**3 utgjorde 14,5 % [12,5;16,9] og pasientene homozygote for *UGT1A4**3 utgjorde 1,7 % [1,0;2,7]. Det var totalt 266 kvinner og 124 menn som ble *UGT1A4**3-genotypet og inkludert i den statistiske analysen av lamotrigin.

Av de totalt 1005 serumprøvene ble 273 serumprøver fra 171 pasienter reanalysert for konsentrasjonsbestemmelse av lamotrigin 2-*N*-glukuronid ved hjelp av UPLC MS-MS. Av analysesvarene lå to konsentrasjoner under og 152 konsentrasjoner over standardkurven, og det ble her valgt å hente ut svar fra lineær standardkurve. Serumkonsentrasjonsmålinger fra pasienter uten påvist mutasjon i *UGT1A4**3 utgjorde 83,1 % [78,2;87,2] av dette prøvematerialet, gruppen med heterozygote pasienter for *UGT1A4**3 utgjorde 14,3 % [10,6;19,0] og pasienter homozygote for *UGT1A4**3 utgjorde 2,6 % [1,1;5,3]. Det var totalt 114 kvinner og 57 menn inkludert i den statistiske analysen av lamotrigin 2-*N*-glukuronid (*tabell 3*).

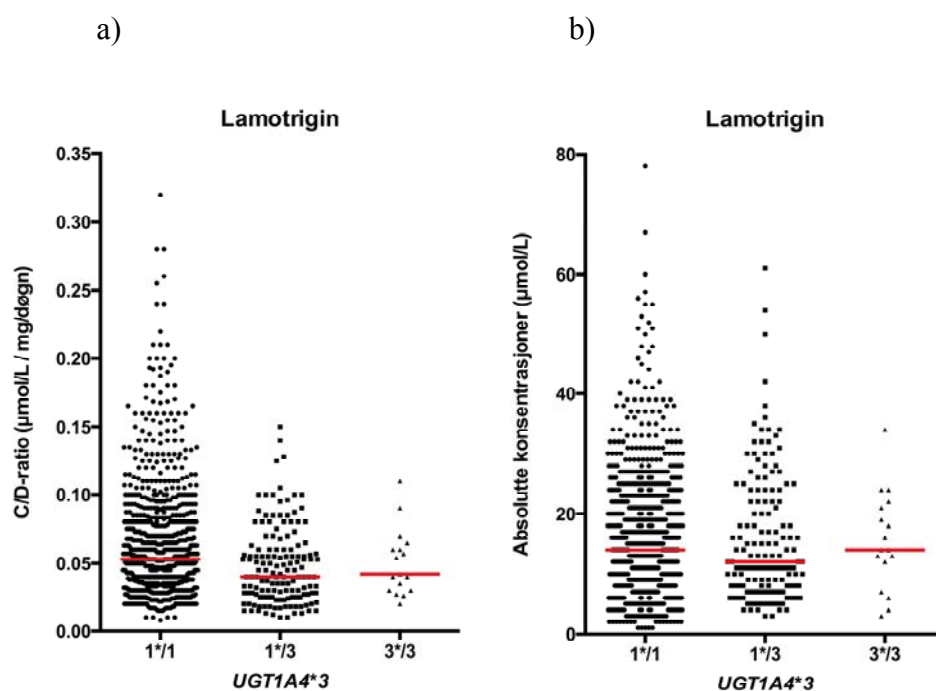
Tabell 3: Deskriptive data for de inkluderte pasientene som ble analysert for lamotrigin og metabolitten lamotrigin 2-*N*-glukuronid, stratifisert etter *UGT1A4*-genotype.

Variabel	Lamotrigin				Lamotrigin 2- <i>N</i> -glukuronid			
	UGT1A4-genotype			Totalt	UGT1A4-genotype			Totalt
	*1/*1	*1/*3	*3/*3		*1/*1	*1/*3	*3/*3	
Alder (år) ¹	43 [13-95]	43 [18-83]	38 [21-60]	43 [13-95]	43 [16-95]	44 [19-76]	38 [21-53]	43 [16-95]
Antall serumprøver (kvinner/menn)	842 (568/274)	146 (101/45)	17 (6/11)	1005 (675/330)	227 (145/82)	39 (28/11)	7 (3/4)	273 (176/97)
Antall pasienter (kvinner/menn)	330 (229/101)	53 (34/19)	7 (3/4)	390 (266/124)	140 (93/47)	27 (19/8)	4 (2/2)	171 (114/57)
Døgndose (mg) ¹	225 [25-1200]	400 [50-1200]	350 [50-600]	250 [25-1200]	250 [25-1200]	400 [100-1200]	500 [50-600]	300 [25-1200]
Prøvetakingstid (t) ^{1,2}	13 [7-30]	13 [10-28]	13 [12-28]	13 [7-30]	13 [7-30]	12 [11-27]	13 [12-25]	13 [7-27]
Andel røykere (%)	45,7	53,3	33,3	46,5	33,3	36,4	33,3	33,7

¹ Tallene er presentert som median [spredning]; ² Tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetaking.

3.2 Lamotrigin

De dosejusterte serumkonsentrasjonene og de absolutte serumkonsentrasjonene av lamotrigin observert blant pasienter med ulik *UGT1A4**3 er visualisert i *figur 6*. De røde horisontale linjene indikerer median serumkonsentrasjon i hver pasientgruppe. *Figur 6a* viser at de fleste serumkonsentrasjonsmålingene i alle pasientgruppene lå under 0,10 µmol/l/mg/døgn. Det er kun hos pasienter uten mutasjon i *UGT1A4**3 at det ble observert C/D-ratio over 0,16 µmol/l/mg/døgn. Det ble observert en større spredning og en høyere gjennomsnittlig C/D-ratio i denne gruppen sammenlignet med de to andre pasientgruppene. *Figur 6b* viser de absolutte serumkonsentrasjonene og det var kun små forskjeller i mediankonsentrasjonene mellom pasientgruppene.



Figur 6: (a) Observerte dosejusterte serumkonsentrasjoner og (b) observerte absolutte serumkonsentrasjoner av lamotrigin blant pasienter med ulik *UGT1A4*-genotype. Horisontale linjer indikerer median.

Prosentvis endring i dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin og p-verdi for kovariatene analysert i studien er oppgitt i *tabell 4*. Alle resultatene i den endelige modellen er korrigert for alder og tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetidspunkt.

Tabell 4: Observerte effekt av *UGT1A4**3, valproat og sigarettøyking på dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin, basert på estimerer fra lineær mixed model.

Lamotrigin		
Variabel	Prosentvis endring	p-verdi
Heterozygot <i>UGT1A4</i> *3	-24,3 %	0,002
Homozygot <i>UGT1A4</i> *3	-18,9 %	0,436
Valproat	+173,5 %	<0,001
Sigarettøyking	-9,0 %	0,100

3.2.1 Betydningen av *UGT1A4**3 på serumkonsentrasjonen av lamotrigin

Pasienter heterozygote for *UGT1A4**3 viste en signifikant lavere dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet (-24,3

%; $p=0,002$) (*tabell 4*). Det ble inkludert totalt 146 prøver fra 53 pasienter heterozygote for *UGT1A4*3*. Av disse var det 34 kvinner og 19 menn. Alder (median) for disse pasientene var 43 år (spredning 18-83) (*tabell 3*).

Pasienter homozygote for *UGT1A4*3* hadde en 18,9 % lavere dosejustert lamotriginkonsentrasjon sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet, men forskjellen var ikke signifikant ($p>0,4$) (*tabell 4*). Det var inkludert totalt 17 prøver fra syv pasienter homozygote for *UGT1A4*3*. Av disse var det tre kvinner og fire menn. Alder (median) for disse pasientene var 38 år (spredning 21-60) (*tabell 3*).

3.2.2 Betydningen av sigarettøyking på serumkonsentrasjonen av lamotrigin

Av de inkluderte pasientene røykte 46,5 % (*tabell 3*). Sammenlignet med ikke-røykere viste pasienter som røyker 9 % lavere dosejustert lamotriginkonsentrasjon ($p=0,1$) (*tabell 4*).

3.2.3 Betydningen av komedikasjon med valproat på serumkonsentrasjonen av lamotrigin

Det ble vist signifikant økt dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin hos pasienter med samtidig behandling med valproat sammenlignet med ikke-brukere. Dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin var 173,5 % høyere hos denne gruppen sammenlignet med gruppen som ikke brukte valproat ($p<0,001$) (*tabell 4*). Det var totalt 26 pasienter i studien som både brukte lamotrigin og valproat. Dette utgjorde 71 serumprøver.

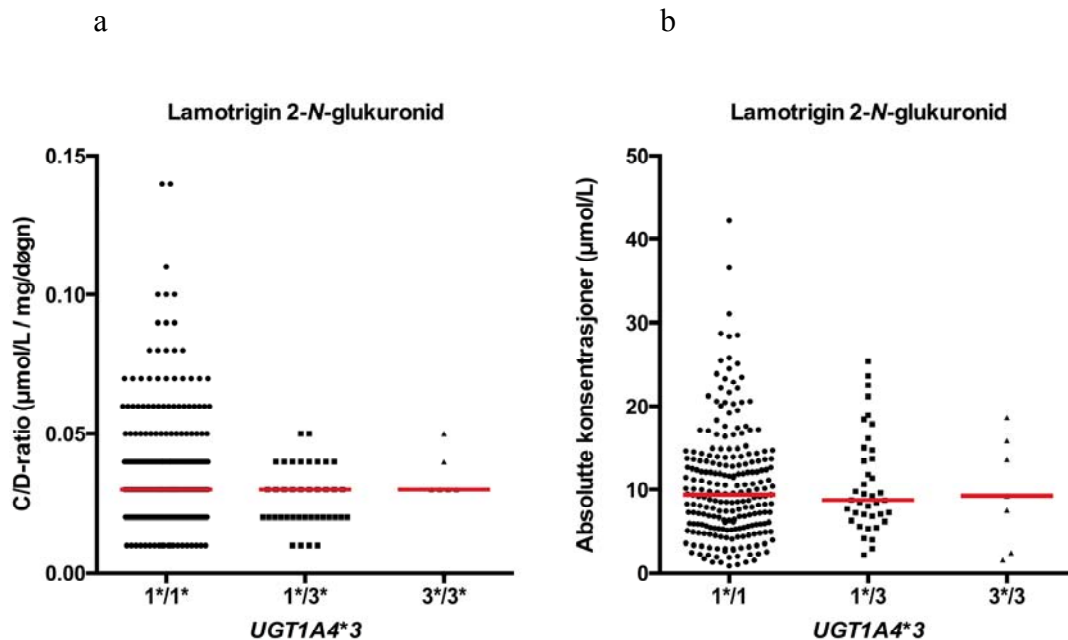
3.2.4 Betydningen av andre faktorer på serumkonsentrasjonen av lamotrigin

Studien viste ingen signifikant effekt av kjønn på dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin ($p>0,4$). Studien inkluderte totalt 675 serumprøver fra 266 kvinner og 330 serumprøver fra 124 menn (*tabell 3*).

Studien viste ingen signifikante interaksjoner med hverken topiramet, litium eller fluoksetin i kombinasjon med lamotrigin ($p>0,8$).

3.3 Lamotrigin 2-*N*-glukuronid

De dosejusterte serumkonsentrasjonene og de absolutte serumkonsentrasjonene av lamotrigin 2-*N*-glukuronid observert blant pasienter med ulik *UGT1A4**3 er visualisert i figur 7. De røde horisontale linjene indikerer median serumkonsentrasjon i hver pasientgruppe. Figur 7a viser at pasientene heterozygote og homozygote for *UGT1A4**3 ikke hadde like stor spredning i C/D-ratio som pasienter uten dette variantallelet. Gjennomsnittlig C/D-ratio ble observert høyere hos pasienter uten mutasjon i *UGT1A4**3 sammenlignet med de to andre pasientgruppene. Det ble observert lavest C/D-ratio hos pasienter heterozygote for *UGT1A4**3, men det var ingen signifikant forskjell mellom gruppene. Figur 7b viser absolutte serumkonsentrasjoner av lamotrigin 2-*N*-glukuronid og viser at det kun var små forskjeller i mediankonsentrasjonene mellom pasientgruppene.



Figur 7: (a) Observerte dosejusterte serumkonsentrasjoner og (b) observerte absolutte serumkonsentrasjoner av lamotrigin 2-*N*-glukuronid blant pasienter med ulik *UGT1A4*-genotype. Horisontale linjer indikerer median.

Prosentvis endring i dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin 2-*N*-glukuronid og p-verdi for kovariatene analysert i studien er oppgitt i tabell 5. Alle resultatene er korrigert for alder og tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetidspunkt.

Tabell 5: Observert effekt av *UGT1A4**3, valproat og sigarettøyking på dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin 2-*N*-glukuronid, basert på estimer fra lineær mixed model.

Variabel	Lamotrigin 2- <i>N</i> -glukuronid	
	Prosentvis endring	p-verdi
Heterozygot <i>UGT1A4</i> *3	-9,2 %	0,520
Homozygot <i>UGT1A4</i> *3	-29,7 %	0,180
Valproat	+59,2 %	0,049
Sigarettøyking	+8,1 %	0,436

3.3.1 Betydningen av *UGT1A4**3 på serumkonsentrasjonen av lamotrigin 2-*N*-glukuronid

Det ble observert 9,2 % lavere dosejustert serumkonsentrasjon av lamotriginglukuronidet hos pasienter heterozygote for *UGT1A4**3 sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet, men forskjellen var ikke signifikant ($p > 0,5$) (tabell 5). Det ble inkludert totalt 39 serumprøver fra 27 pasienter heterozygote for *UGT1A4**3. Av disse var det 19 kvinner og åtte menn. Alder (median) for disse pasientene var 44 år (spredning 19-76) (tabell 3).

Hos pasienter homozygote for *UGT1A4**3 ble det observert en ikke-signifikant 29,7 % lavere metabolittkonsentrasjon sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet ($p > 0,1$) (tabell 5). Det var inkludert totalt syv serumprøver fra fire pasienter homozygote for *UGT1A4**3. Av disse var det to kvinner og to menn. Alder (median) for disse pasientene var 38 år (spredning 21-53) (tabell 3).

3.3.2 Betydningen av sigarettøyking på serumkonsentrasjonen av lamotrigin 2-*N*-glukuronid

Av de inkluderte pasientene i studien var 33,7 % røykere (tabell 3). Sammenlignet med ikke-røykere ble det observert en ikke-signifikant 8,1 % høyere dosejustert metabolittkonsentrasjon hos røykere ($p > 0,4$) (tabell 5).

3.3.3 Betydningen av komedikasjon med valproat på serumkonsentrasjonen av lamotrigin 2-*N*-glukuronid

Pasienter med samtidig behandling med valproat viste en signifikant økning i dosejustert serumkonsentrasjon av lamotriginglukuronidet sammenlignet med ikke-brukere (+59,2 %; $p=0,049$) (*tabell 5*). Med tanke på interaksjoner med lamotrigin var det totalt ni pasienter i studien som både brukte lamotrigin og valproat. Dette utgjorde 15 serumprøver.

3.3.4 Betydningen av andre faktorer på serumkonsentrasjonen av lamotrigin 2-*N*-glukuronid

Siden det ikke viste signifikant effekt av kjønn i den statistiske analysen av lamotrigin ble ikke denne pasientgruppen tatt med i den statistiske analysen av lamotrigin 2-*N*-glukuronid. Kovariatene topiramat, litium og fluoksetin ble ikke tatt med i den statistiske analysen av lamotrigin 2-*N*-glukuronid, da det ikke ble påvist interaksjon mellom disse legemidlene og lamotrigin i den statistiske analysen av lamotrigin.

3.4 Tilleggsanalyse for dosesammenligning basert på *UGT1A43-genotype**

Det ble utført en statistisk tilleggsanalyse for å sammenligne dosering i pasientgruppene med ulik *UGT1A4**3-genotype. Dette for å se om effekten av genotype var korrigert for i denne pasientpopulasjonen. Det ble vist en signifikant 33,8 % økt lamotrigindosering hos pasienter heterozygote for *UGT1A4**3 sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet ($p<0,001$). Hos pasienter homozygote for *UGT1A4**3 ble det estimert en ikke-signifikant 16,8 % økt lamotrigindosering sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet ($p>0,4$). *Tabell 3* viser at median døgndose for pasienter heterozygote og homozygote for *UGT1A4**3 var ca 400 mg, sammenlignet med 225 mg hos pasienter uten dette variantallelet. *Figur 6b* og *7b* viser absolutte serumkonsentrasjoner for henholdsvis lamotrigin og metabolitten lamotrigin 2-*N*-glukuronid, og figurene viser kun små forskjeller i mediankonsentrasjonene mellom pasientgruppene.

4 Diskusjon

I denne studien ble det vist en signifikant 25 % reduksjon i dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin hos pasienter heterozygote for *UGT1A4**3 sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet. Hos pasienter homozygote for *UGT1A4**3 ble det estimert en ikke-signifikant 20 % reduksjon i dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet.

Betydningen av *UGT1A4**3 på serumkonsentrasjonen av lamotrigin og metabolitten er hittil lite studert. Det er kun to mindre studier som har sett på betydningen av *UGT1A4**3 på serumkonsentrasjonen av lamotrigin *in vivo* [26, 27]. Den ene studien viser at pasienter heterozygote for *UGT1A4**3 hadde en signifikant halvert serumkonsentrasjon av lamotrigin sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet, mens den andre studien viste at *UGT1A4**3-polymorfisme ikke påvirket farmakokinetikken til lamotrigin. Studien denne oppgaven er basert på har et betydelig større pasientmateriale og bekrefter at *UGT1A4**3 har begrenset betydning for serumkonsentrasjonen av lamotrigin.

Denne studien er i tillegg den første studien som ser på betydningen av *UGT1A4**3 på serumkonsentrasjonen av lamotrigin 2-*N*-glukuronid. For denne metabolitten ble det estimert en ikke-signifikant 10 % og 30 % reduksjon i C/D-ratio hos pasienter henholdsvis heterozygote og homozygote for *UGT1A4**3 sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet. Metabolittkonsentrasjoner ble målt for å undersøke mekanismen bak eventuell endring i lamotriginkonsentrasjon. Det kunne forventes en økt metabolittkonsentrasjon i disse pasientgruppene siden lamotriginkonsentrasjonen ble redusert, men selv om studien ikke viste signifikant endring i serumkonsentrasjonen av lamotrigin 2-*N*-glukuronid utelukker ikke dette økt glukuronidering via *UGT1A4*. Dette bør undersøkes nærmere i fremtidige studier.

Lamotrigin er ansett å hovedsakelig bli metabolisert via *UGT1A4* [26, 29], og det antas at *UGT1A4*-mutasjoner kan ha betydning for serumkonsentrasjonen av blant annet lamotrigin [2, 9, 26]. I 2011 viste Gulcebi *et al.* en signifikant 50 % lavere lamotriginkonsentrasjon for pasienter heterozygote for *UGT1A4**3 sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet i en subpopulasjon av ikke-røykere [26]. Studien bestod av 129 tyrkiske pasienter hvor kun to pasienter var homozygote for *UGT1A4**3 [26]. En svakhet med studien var at det ikke ble korrigert for andre faktorer og at effekten ble vist i en subpopulasjon av ikke-røykere. En annen nylig studie så på betydningen av *UGT1A4*-polymorfisme på farmakokinetikken til

lamotrigin [27]. Resultatene viste at *UGT1A4**3 ikke påvirket farmakokinetikken i en pasientpopulasjon fra Thailand [27]. Derimot viste *UGT2B7 161C>T*-polymorfismen en signifikant 20 % reduksjon i clearance av lamotrigin [27]. Disse to tidligere studiene har vist motstridende resultater, men begge er utført i et begrenset pasientmateriale (n=129 og n=75) [26, 27].

Denne studien inkluderte totalt 1005 serumprøver fra 390 pasienter hvor *UGT1A4**3-genotypen er kjent, og den hadde i tillegg et tilstrekkelig antall homozygote bærere av *UGT1A4**3 som brukte lamotrigin til å kunne studere effekten av denne genotypen. I denne studien ble det brukt lineær mixed model som statistisk metode. Denne tar hensyn til ulike faktorer ved estimering av effekt av kovariatene inkludert i modellen. Siden det i denne studien ble inkludert et så stort pasientmateriale er det all grunn til å tro at klinisk betydning av *UGT1A4**3 på serumkonsentrasjonen av lamotrigin ikke er stor nok til å anbefale rutinemessig *UGT1A4**3-genotyping.

For både pasienter heterozygote og homozygote for *UGT1A4**3 ble det observert omlag 25 % lavere C/D-ratio av lamotrigin sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet. Det var forventet at den observerte C/D-ratioen ville ligge lavere hos homozygote enn heterozygote individer for *UGT1A4**3. Det er ikke kjent noen andre studier som har sammenlignet kinetikken til lamotrigin hos pasienter heterozygote og homozygote for *UGT1A4**3, og kun en studie har sammenlignet kinetikken til andre substrater. Denne studien viste at pasienter homozygote for *UGT1A4**3 hadde høyere dosejustert metabolittkonsentrasjon av olanzapin sammenlignet med pasienter heterozygote for *UGT1A4**3, men studien viste ingen forskjell på modersubstansen [60]. Dette kan tyde på at pasienter homozygote for *UGT1A4**3 har raskere metabolisme enn pasienter heterozygote for *UGT1A4**3 [60]. For å belyse forskjellen mellom homozygote og heterozygote bærere av *UGT1A4**3 trengs det flere studier.

Flere studier viser at betydningen av *UGT1A4**3 varierer mellom ulike andre substrater [19, 25]. En årsak til dette kan være at *UGT1A4**3 fører til substratspesifikke effekter. En aminosyreendring fra leucin til valin kan føre til endringer i proteinstruktur og folding av enzymet, og kan føre til at bindingsaffiniteten til ulike substrater endres [61]. I tillegg kan haplotyper, det vil si ulike mutasjoner som opptrer sammen, variere mellom etniske grupper. Dette kan være en årsak til motstridende funn i forskjellige populasjoner.

Pasienter som samtidig behandles med valproat viste en signifikant 175 % og 60 % økning i dosejustert serumkonsentrasjon av henholdsvis lamotrigin og lamotriginglukuronidet sammenlignet med ikke-brukere. Valproat er i flere tidligere studier vist å være en sterk hemmer av lamotriginmetabolismen [47, 49], noe som blir bekreftet av denne studien. Pasienter som blir behandlet med denne kombinasjonen vil derfor ha et betydelig lavere dosebehov av lamotrigin. I en *in vitro*-studie ble det vist at valproat hemmer lamotriginmetabolismen via UGT2B7 og ikke via UGT1A4 [49]. Lamotrigin er ansett å bli metabolisert hovedsakelig via UGT1A4 [62] og i mindre grad via UGT2B7. På bakgrunn av dette er det uventet at denne interaksjonen gir så store utslag. UGT1A4 og UGT2B7 fører begge til dannelse av lamotrigin 2-*N*-glukuronid [49]. Uavhengig av hvilket av disse enzymerne som blir påvirket av valproat, var det derfor forventet en redusert metabolittkonsentrasjon ved bruk av denne kombinasjonen, noe studien ikke viste. På bakgrunn av våre funn er det derfor ikke mulig å konkludere rundt mekanismen bak interaksjonen mellom lamotrigin og valproat.

Tidligere studier har rapportert motstridende resultater på hvilken effekt alder har på serumkonsentrasjonen av lamotrigin [2, 63, 64]. Den statistiske analysemetoden som brukes i denne studien har mulighet til å korrigere for alder, og dette ble gjort da det ikke er kjent at lamotriginkonsentrasjonen reduseres rundt en bestemt alder. Den statistiske analysen gir ingen mål på hvor stor forskjellen er eller om det er reduksjon eller økning i lamotriginkonsentrasjonen med økende alder, men den viser at det er en signifikant effekt av alder på serumkonsentrasjonen av lamotrigin. Både farmakodynamikken og farmakokinetikken er endret hos eldre på grunn av normal aldring, for eksempel ved at organfunksjonene endres [65]. Leverens metabolismekapasitet er ofte godt bevart gjennom livet, så ut fra leverfunksjonen er det ofte ikke nødvendig å redusere legemiddeldosen til eldre [18]. Derimot er det vist at hepatisk blodflow blir redusert med alder [66]. Clearance av legemidler med lav ekstraksjonsratio, som for eksempel lamotrigin [67], er generelt mindre påvirket av hepatisk blodflow enn høy-ekstraherte legemidler [68]. På den andre siden reduseres nyrefunksjonen med ca 1 % årlig fra ung voksen alder [10]. En mindre andel lamotrigin og metabolitten utskilles renalt, og det kan dermed forventes økende serumkonsentrasjoner med økende alder.

Det ble observert en ikke-signifikant 10 % redusert dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin ($p=0,1$) og en 10 % økt dosejustert serumkonsentrasjon av metabolitten ($p>0,4$)

hos røykere sammenlignet med ikke-røykere. En mindre reduksjon i lamotriginkonsentrasjonen var forventet ut fra tidligere studier. Reinsberger *et al.* (2008) viste at pasienter som røyker har en signifikant 15 % redusert serumkonsentrasjon av lamotrigin [56]. En redusert lamotriginkonsentrasjon og en økt metabolittkonsentrasjon kan tyde på at denne interaksjonen kan forklares med en induksjon av et metaboliserende enzym. Ingen studier hittil viser at sigarettøyking induserer UGT1A4, men tidligere studier viser at sigarettøyking har en induserende effekt på flere enzymer, blant annet UGT2B7 [26]. Siden lamotrigin også metaboliseres via UGT2B7 kan dette være årsaken til at lamotriginkonsentrasjonen reduseres og metabolittkonsentrasjonen økes noe hos røykere sammenlignet med ikke-røykere.

Det ble ikke observert en signifikant kjønnsforskjell på C/D-ratio av hverken lamotrigin eller lamotrigin 2-*N*-glukuronid i denne studien. Dette er i tråd med tidligere studier, hvor ingen studier har vist at kjønn har betydning på serumkonsentrasjonen av lamotrigin [57-59]. Hos kvinner i fertil alder er det derimot flere faktorer som kan bidra til endret farmakokinetikk av lamotrigin. Flere studier har vist at gravide og kvinner som bruker hormonelle antikonseptiva har signifikant lavere lamotriginkonsentrasjon på grunn av økt clearance [48, 50, 52]. Serumprøvene fra disse pasientgruppene ble ekskludert da det ikke var nok prøver til å kunne studere effekt og fordi det er kjent at disse pasientene får reduserte serumkonsentrasjoner av lamotrigin.

Samtidig bruk av topiramat ble, i en studie av Reimers *et al.* (2005), vist å føre til signifikant redusert serumkonsentrasjon av lamotrigin [69], men andre tidligere studier bekrefter ikke dette [70, 71]. Komedikasjon med topiramat påvirket heller ikke C/D-ratioen av lamotrigin i denne studien ($p > 0,8$). Reimers *et al.* viste også interaksjon med lamotrigin i kombinasjon med fluoksetin og litium, med henholdsvis 50 % og 15 % reduksjon i dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin, ved samtidig bruk av disse legemidlene [57, 69]. Disse interaksjonene viser heller ingen statistisk signifikans i denne studien ($p > 0,8$). I Reimers studie var det inkludert 15 og 102 serumprøver hvor det var komedikasjon med henholdsvis fluoksetin og litium, mens denne studien inkluderte 38 og 145 i de respektive pasientgruppene.

Denne studien er basert på data fra terapeutisk legemiddelmonitorering. Fordelen med denne type data er at den tar utgangspunkt i prøver fra reelle pasienter i en naturlig sammenheng, i motsetning til studier som er utført på friske frivillige hvor forsøkspersonene kan skille seg fra

pasientene både fysiologisk og sosiodemografisk. Sannsynligheten for at studien reflekterer den faktiske virkeligheten er derfor større. I tillegg er det større mulighet til å inkludere et større prøvemateriale sammenlignet med kontrollerte kliniske studier og man slipper å eksponere et større antall friske mennesker for legemidlene som ønskes studert.

Det er derimot knyttet flere begrensninger til denne type studie. Opplysningene på rekvisisjonsskjemaene utgjør hovedkilden til informasjon om pasienten og de aktuelle prøvene. Dette er en potensiell feilkilde da informasjonen som er oppgitt på skjemaene kan være mangelfulle, unøyaktig utfylt eller inneholde direkte feil. Manglende etterlevelse regnes som spesielt relevant innen psykiatrien, og det er rapportert at denne pasientgruppen i gjennomsnitt kun tar om lag 60 % av forskrevet døgndose [72]. I sammenligning er det rapportert at pasienter med epilepsi tar opp mot 90 % av foreskrevet døgndose [72]. Likevel vil betydningen av slike usikkerhetsmomenter hos enkeltpasienter bli begrenset når materialet er så stort som i denne studien. Den valgte statistiske analysemetoden er også velegnet for denne typen data. UPLC MS/MS-metoden som ble benyttet i studien er validert for rutinebestemmelse av lamotrigin, men ble modifisert for å kunne bestemme konsentrasjoner av metabolitten lamotrigin 2-*N*-glukuronid. Metoden ble ikke validert siden hensikten med metabolittmåling var å studere eventuelle endringer i metabolittkonsentrasjonen for å underbygge mekanismer, heller enn nøyaktig å kvantifisere konsentrasjonene.

Hvis man sammenligner relative forskjeller mellom en pasient heterozygot for *UGT1A4*3* som behandles med lamotrigin, med en pasient uten mutasjon i *UGT1A4*3* som behandles med lamotrigin i kombinasjon med valproat, vil sistnevnte i gjennomsnitt oppnå en dosejustert serumkonsentrasjon som er ca fire ganger høyere enn førstnevnte. I tillegg viser studien at den interindividuelle variabiliteten i farmakokinetikken er betydelig, og at klinisk relevans av ulike faktorer vil variere fra person til person. Effekten av *UGT1A4*3* på serumkonsentrasjonen av lamotrigin vil derfor være betydelig større hos noen pasienter enn hos andre. *UGT1A4*3*-genotyping kan være et nyttig tillegg til serumkonsentrasjonsmålinger hos pasienter som ikke får effekt av lamotrigin eller hvor det er usikkerhet rundt pasientens etterlevelse.

5 Konklusjon

Denne studien er hittil den største som har undersøkt betydningen av *UGT1A4**3-polymorfisme på serumkonsentrasjonen av lamotrigin og lamotrigin 2-*N*-glukuronid. I tillegg estimerer studien effekten av valproat og sigarettøyking på serumkonsentrasjonen av lamotrigin og metabolitten. Studien viser at pasienter heterozygote og homozygote for *UGT1A4**3 har både reduserte dosejusterte lamotrigin- og metabolittkonsentrasjoner sammenlignet med pasienter uten dette variantallelet. Studien bekrefter videre en nesten tre ganger økt dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin hos pasienter med samtidig bruk av valproat sammenlignet med ikke-brukere. Mekanismen bak interaksjonen kan ikke forklares ved hjelp av metabolittdataene i studien, og bør derfor undersøkes nærmere i framtidige studier. Sammenlignet med ikke-røykere tyder resultatene på noe lavere dosejustert serumkonsentrasjon av lamotrigin hos røykere. Resultatene fra denne masteroppgaven understreker at eventuell komedikasjon med valproat bør tas hensyn til ved dosering av lamotrigin. Nytteverdien av *UGT1A4**3-genotyping ser ut til å være begrenset ved oppstart av lamotriginbehandling, men kan være et nyttig verktøy hos pasienter med manglende effekt av lamotrigin og ved mistanke om nedsatt etterlevelse.

Litteraturliste

1. Andersen, S., H. Refsum, and L. Tanum, *Bruk av psykofarmaka - bør serumkonsentrasjonen kontrolleres?* Tidsskrift for den Norske Legeforening, 2004. **124**(18): p. 2362-4.
2. Court, M., *Interindividual variability in hepatic drug glucuronidation: studies into the role of age, sex, enzyme inducers, and genetic polymorphism using the human liver bank as a model system.* Drug Metabolism Reviews, 2010. **42**(1): p. 209-24.
3. López, M., et al., *Pharmacogenetics of the antiepileptic drugs phenytoin and lamotrigine.* Drug Metabolism and Drug Interactions, 2011. **26**(1): p. 5-12.
4. Kalow, W., B.K. Tang, and L. Endrenyi, *Hypothesis: comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research.* Pharmacogenetics, 1998. **8**(4): p. 283-9.
5. Amstutz, U. and B.C. Carleton, *Pharmacogenetic testing: time for clinical practice guidelines.* Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2011. **89**(6): p. 924-7.
6. Spear, B.B., M. Heath-Chiozzi, and J. Huff, *Clinical application of pharmacogenetics.* Trends in Molecular Medicine, 2001. **7**(5): p. 201-4.
7. Gervasini, G., J. Benítez, and J.A. Carrillo, *Pharmacogenetic testing and therapeutic drug monitoring are complementary tools for optimal individualization of drug therapy.* European Journal of Clinical Pharmacology, 2010. **66**(8): p. 755-74.
8. Rudberg, I., D.K. Solberg, and H. Refsum, *CYP-genotyping ved psykofarmakologisk behandling.* Tidsskrift for den norske Legeforening, 2005. **125**(21): p. 2953-5.
9. Benoit-Biancamano, M.O., et al., *A pharmacogenetics study of the human glucuronosyltransferase UGT1A4.* Pharmacogenet Genomics, 2009. **19**(12): p. 945-54.
10. *Norsk legemiddelhåndbok for helsepersonell* 2010: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS.
11. Rang, H.P., et al., *Rang and Dale's Pharmacology.* Sixth ed 2007, Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier.
12. Nielsen, E.W. and K. Dybwik, *Legemiddelinteraksjoner i en intensivavdeling.* Tidsskrift for den Norske Legeforening, 2004. **124**(22): p. 2907-8.
13. Heuberger, R., *Polypharmacy and food-drug interactions among older persons: a review.* Journal of Nutrition in Gerontology & Geriatrics, 2012. **31**(4): p. 325-403.
14. Boullata, J.I. and L.M. Hudson, *Drug-nutrient interactions: a broad view with implications for practice.* Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics, 2012. **112**(4): p. 506-17.
15. Messer, A., et al., *Major furocoumarins in grapefruit juice II: phototoxicity, photogenotoxicity, and inhibitory potency vs. cytochrome P450 3A4 activity.* Food and Chemical Toxicology, 2012. **50**(3-4): p. 756-60.
16. Renton, K.W., *Regulation of drug metabolism and disposition during inflammation and infection.* Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology, 2005. **1**(4): p. 629-40.
17. Richardson, T.A., et al., *Expression of UDP-glucuronosyltransferase isoform mRNAs during inflammation and infection in mouse liver and kidney.* Drug Metabolism and Disposition, 2006. **34**(3): p. 351-3.
18. Spigset O., S.L., *Grunnleggende farmakokinetikk – eliminasjon.* Tidsskrift for den Norske Legeforening, 2005. **125**(9): p. 1181-2.

19. Mori, A., et al., *UDP-glucuronosyltransferase 1A4 polymorphisms in a Japanese population and kinetics of clozapine glucuronidation*. Drug Metab Dispos, 2005. **33**(5): p. 672-5.
20. De Gregori, S., et al., *Morphine metabolism, transport and brain disposition*. Metabolic Brain Disease, 2012. **27**(1): p. 1-5.
21. Mackenzie, P.I., et al., *Nomenclature update for the mammalian UDP glycosyltransferase (UGT) gene superfamily*. Pharmacogenetics and Genomics, 2005. **15**(10): p. 677-85.
22. Saeki, M., et al., *Genetic variations and haplotypes of UGT1A4 in a Japanese population*. Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 2005. **20**(2): p. 144-51.
23. Zhou, J., U.A. Argikar, and R.P. Remmel, *Functional analysis of UGT1A4(P24T) and UGT1A4(L48V) variant enzymes*. Pharmacogenomics, 2011. **12**(12): p. 1671-9.
24. Pharmacogenomics Laboratory. *UGT1A4 SNPs table*. 31. januar 2013 [cited 2013 15.02]; Available from: <http://www.pharmacogenomics.pha.ulaval.ca/files/content/sites/pharmacogenomics/files/Nomenclature/dbsnp/UGT1A4.htm>.
25. Ehmer, U., et al., *Variation of hepatic glucuronidation: Novel functional polymorphisms of the UDP-glucuronosyltransferase UGT1A4*. Hepatology, 2004. **39**(4): p. 970-7.
26. Gulcebi, M.I., et al., *The relationship between UGT1A4 polymorphism and serum concentration of lamotrigine in patients with epilepsy*. Epilepsy Research, 2011. **95**(1-2): p. 1-8.
27. Singkham, N., et al., *Influence of the UGT2B7 -161C>T polymorphism on the population pharmacokinetics of lamotrigine in Thai patients*. European Journal of Clinical Pharmacology, 2012.
28. Leach, M.J., C.M. Marden, and A.A. Miller, *Pharmacological studies on lamotrigine, a novel potential antiepileptic drug: II. Neurochemical studies on the mechanism of action*. Epilepsia, 1986. **27**(5): p. 490-7.
29. *SPC Lamictal*. [cited 2012 10.11]; Available from: <http://www.legemiddelverket.no/Legemiddelsoek/Sider/Preparatomtale.aspx?pakningId=35fd309e-08bb-497c-bf37-15e34c0bad56>.
30. Folkehelseinstituttet. *Nasjonalt reseptbasert legemiddelregister*. [cited 2013 25.04]; Available from: www.reseptregisteret.no.
31. Hiemke, C., et al., *AGNP consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in psychiatry: update 2011*. Pharmacopsychiatry, 2011. **44**(6): p. 195-235.
32. Leonard, B.E., *Fundamentals of Psychopharmacology* 2003, England: John Wiley & Sons Ltd.
33. McGuffin, P., et al., *The heritability of bipolar affective disorder and the genetic relationship to unipolar depression*. Archives of General Psychiatry, 2003. **60**(5): p. 497-502.
34. Wray N.R. and G. Il., *Using Summary Data from the Danish National Registers to Estimate Heritabilities for Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Major Depressive Disorder*. Frontiers in Genetics, 2012. **3**: p. 118.
35. American Psychiatric Association, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition - Text Revision (DSMIV-TR)* 2000.
36. Helsedirektoratet. *Nasjonal faglig retningslinje for utgreiing og behandling av bipolare lidingar*. [cited 2013 05.01]; Available from: <http://www.helsedirektoratet.no/publikasjoner/nasjonal-retningslinje-for-utgreiing-og-behandling-av-bipolare-lidingar/Sider/default.aspx>.

37. Calabrese, J.R., et al., *A double-blind, placebo-controlled, prophylaxis study of lamotrigine in rapid-cycling bipolar disorder. Lamictal 614 Study Group.* Journal of Clinical Psychiatry, 2000. **61**(11): p. 841-50.
38. Larsson, S., et al., *Age at onset of bipolar disorder in a Norwegian catchment area sample.* Journal of Affective Disorders, 2010. **124**(1-2): p. 174-177.
39. Morken, G., et al., *Age at onset of first episode and time to treatment in in-patients with bipolar disorder.* British Journal of Psychiatry, 2009. **194**(6): p. 559-60.
40. Post, R.M., et al., *Incidence of childhood-onset bipolar illness in the USA and Europe.* British Journal of Psychiatry, 2008. **192**(2): p. 150-1.
41. Birmaher, B. and D. Axelson, *Course and outcome of bipolar spectrum disorder in children and adolescents: a review of the existing literature.* Development and Psychopathology, 2006. **18**(4): p. 1023-35.
42. Kringlen, E., S. Torgersen, and V. Cramer, *Mental illness in a rural area: a Norwegian psychiatric epidemiological study.* Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology, 2006. **41**(9): p. 713-9.
43. Soutullo, C.A., et al., *Bipolar disorder in children and adolescents: international perspective on epidemiology and phenomenology.* Bipolar Disorders, 2005. **7**(6): p. 497-506.
44. Rimehaug, T. and O. Bjerkan, *Bipolar lidelse hos barn - en introduksjon.* Tidsskrift for Norsk Psykologforening, 2008. **45**(11): p. 1383-95.
45. Dias, V.V., et al., *Pharmacological approaches in bipolar disorders and the impact on cognition: a critical overview.* Acta Psychiatrica Scandinavica, 2012. **126**(5): p. 315-31.
46. Gualtieri, C.T. and L.G. Johnson, *Comparative neurocognitive effects of 5 psychotropic anticonvulsants and lithium.* Medscape General Medicine, 2006. **8**(3): p. 46.
47. Morris, R.G., et al., *Clinical study of lamotrigine and valproic acid in patients with epilepsy: using a drug interaction to advantage?* Therapeutic Drug Monitoring, 2000. **22**(6): p. 656-60.
48. Öhman, I., et al., *Plasma concentrations of lamotrigine and its 2-N-glucuronide metabolite during pregnancy in women with epilepsy.* Epilepsia, 2008. **49**(6): p. 1075-80.
49. Rowland, A., et al., *In vitro characterization of lamotrigine N2-glucuronidation and the lamotrigine-valproic acid interaction.* Drug Metabolism and Disposition, 2006. **34**(6): p. 1055-62.
50. Reimers, A., et al., *Lamotrigine and its N2-glucuronide during pregnancy: The significance of renal clearance and estradiol.* Epilepsy Research, 2011. **94**: p. 198-205.
51. Kiang, T.K., M.H. Ensom, and T.K. Chang, *UDP-glucuronosyltransferases and clinical drug-drug interactions.* Pharmacology & Therapeutics, 2005. **106**(1): p. 97-132.
52. Chen, H., et al., *Up-regulation of UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A4 by 17beta-estradiol: a potential mechanism of increased lamotrigine elimination in pregnancy.* Drug Metabolism and Disposition, 2009. **37**(9): p. 1841-7.
53. Reimers, A., G. Helde, and E. Brodtkorb, *Ethinyl estradiol, not progestogens, reduces lamotrigine serum concentrations.* Epilepsia, 2005. **46**(9): p. 1414-17.
54. Dickerson, F., et al., *Cigarette smoking among persons with schizophrenia or bipolar disorder in routine clinical settings, 1999-2011.* Psychiatric Services, 2013. **64**(1): p. 44-50.

55. Lasser, K., et al., *Smoking and mental illness: A population-based prevalence study*. JAMA: the Journal of the American Medical Association, 2000. **284**(20): p. 2606-10.
56. Reinsberger, C., T. Dorn, and G. Kramer, *Smoking reduces serum levels of lamotrigine*. Seizure, 2008. **17**(7): p. 651-3.
57. Reimers, A., et al., *Lamotrigine in children and adolescents: the impact of age on its serum concentrations and on the extent of drug interactions*. European Journal of Clinical Pharmacology, 2007. **63**(7): p. 687-92.
58. Brzaković, B.B., et al., *Impact of age, weight and concomitant treatment on lamotrigine pharmacokinetics*. Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics, 2012. **37**(6): p. 693-7.
59. Rivas, N., et al., *Population pharmacokinetics of lamotrigine with data from therapeutic drug monitoring in German and Spanish patients with epilepsy*. Therapeutic Drug Monitoring, 2008. **30**(4): p. 483-9.
60. Haslemo, T., et al., *UGT1A4*3 encodes significantly increased glucuronidation of olanzapine in patients on maintenance treatment and in recombinant systems*. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2012. **92**(2): p. 221-7.
61. Kerdpin, O., et al., *Influence of N-terminal domain histidine and proline residues on the substrate selectivities of human UDP-glucuronosyltransferase 1A1, 1A6, 1A9, 2B7, and 2B10*. Drug Metabolism and Disposition, 2009. **37**(9): p. 1948-55.
62. Hiller, A., et al., *Retigabine N-glucuronidation and its potential role in enterohepatic circulation*. Drug Metabolism and Disposition, 1999. **27**(5): p. 605-12.
63. Arif, H., et al., *The effect of age and comedication on lamotrigine clearance, tolerability, and efficacy*. Epilepsia, 2011. **52**(10): p. 1905-13.
64. Johannessen Landmark, C., et al., *Pharmacokinetic variability of four newer antiepileptic drugs, lamotrigine, levetiracetam, oxcarbazepine, and topiramate: a comparison of the impact of age and comedication*. Therapeutic Drug Monitoring, 2012. **34**(4): p. 440-5.
65. Catterton, M.L., S.H. Preskorn, and R.L. Martin, *Pharmacodynamic and pharmacokinetic considerations in geriatric psychopharmacology*. Psychiatric Clinics of North America, 1997. **20**(1): p. 205-18.
66. Klotz, U., *Pharmacokinetics and drug metabolism in the elderly*. Drug Metabolism Reviews, 2009. **41**(2): p. 67-76.
67. Delcò, F., et al., *Dose adjustment in patients with liver disease*. Drug Safety, 2005. **28**(6): p. 529-45.
68. Miners, J.O. and P.I. Mackenzie, *Drug glucuronidation in humans*. Pharmacology & Therapeutics, 1991. **51**(3): p. 347-69.
69. Reimers, A., et al., *Drug interactions between lamotrigine and psychoactive drugs: evidence from a therapeutic drug monitoring service*. Journal of Clinical Psychopharmacology, 2005. **25**(4): p. 342-8.
70. Berry, D.J., et al., *Lack of an effect of topiramate on lamotrigine serum concentrations*. Epilepsia, 2002. **43**(8): p. 818-23.
71. Dooze, D.R., et al., *Topiramate and lamotrigine pharmacokinetics during repetitive monotherapy and combination therapy in epilepsy patients*. Epilepsia, 2003. **44**(7): p. 917-22.
72. Cramer, J.A. and R. Rosenheck, *Compliance with medication regimens for mental and physical disorders*. Psychiatric Services, 1998. **49**(2): p. 196-201.

Vedlegg

Reagenser i <i>UGT1A4</i> *3-genotyping	Produsent
AmpliTaq Gold DNA polymerase med Gold buffer og MgCl ₂	Thermo Ficher Scientific, Waltham, MA, USA
Eco147I restriksjonsenzym med buffer	Fermentas, Thermo Ficher Scientific, Waltham, MA, USA
DNA Molecular Weight Marker, 50bp DNA ladder	NEB, Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA
dNTP	Abgene, Thermo Ficher Scientific, Waltham, MA, USA
Agarose	Wide Range, Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA
Ethidiumbromid	VWR, West Chester, PA, USA
TAE-buffer (50x)	Electran, VWR, West Chester, PA, USA
Gel loading dye (6x)	Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA
Forward Primer: <i>UGT1A4</i> *3 (m/M13) Revers Primer: <i>UGT1A4</i> *3 (m/M13)	Life Technologies, Paisley, Skottland